Vergleichende Untersuchungen über das „Geschlechtschromatin" bei einigen Haustieren mit Hilfe des Buccaltests

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Dipl.-Biol. Eva Struck

aus Stargard/Pommern

Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg

1962

1. Referent: Prof. Dr. H. LÜERS

2. Referent: Prof. Dr. W. ULRICH

Tag der mündlichen Prüfung: 4. August 1960

Tag der Promotion: 28. Feb. 1962

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Sonderdruck aus

Zeitschrift für Zellforschung, Bd. 55, S. 662—672 (1961)

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg

Zeitschrift für Zellforschung 55, 662—672 (1961)

Aus dem Institut für Genetik der Freien Universität Berlin, Berlin-Dahlem
(Direktor: Prof. Dr. H. Lüers)

VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DAS „GESCHLECHTSCHROMATIN" BEI EINIGEN HAUSTIEREN MIT HILFE DES BUCCALTESTS

Von

Eva Struck*

Mit 9 Textabbildungen in 20 Einzeldarstellungen

(Eingegangen am 15. August 1961)

* D 188.

Einleitung

Seit der Entdeckung eines morphologischen Geschlechtsdimorphismus in den Nervenzellkernen der Katze durch Barr und Bertram (1949) wurden — insbesondere von der Barrschen Schule — zahlreiche Untersuchungen durchgeführt, die der Fragestellung dienten, ob eine entsprechende kernmorphologische Geschlechtserkennung auch an anderen Geweben und an anderen Tierarten, einschließlich des Menschen, möglich sei. Die Ergebnisse (Lit. bei Hienz 1959) zeigten, daß die Mehrzahl der Säugetiere wie auch der Mensch in verschiedenen Geweben, ausgenommen das Nervengewebe, eine zytologische Geschlechtserkennung zulassen, wobei das charakteristische Chromatingebilde (Geschlechtschromatin) der Kernmembran innen anliegt.

Auch im peripheren Blut des Menschen und einiger Tierarten ließ sich an den segmentkernigen Leukozyten auf Grund des Vorkommens oder Fehlens eines trommelschlegelförmigen Gebildes (drumstick) eine zytologische Geschlechtsdiagnose durchführen (Davidson und Smith 1954; Th. Lüers 1956; Th. Lüers und H. Lüers 1958; Th. Lüers und E. Struck 1960).

Für die Arbeiten auf dem Gebiet der menschlichen Intersexualitätsforschung und der Geschlechtserkennung bei pathologischen oder unklaren Fällen der Geschlechtsdifferenzierung haben sich der Hautschnittest, der Mundepitheltest und der Leukozytentest als besonders geeignete, leicht anwendbare Methoden erwiesen. Im Hinblick auf die Natur jener Gebilde (Trommelschlegel in segmentkernigen Leukozyten und Geschlechtschromatin in Parenchymkernen) sind zwar in den letzten Jahren gut begründete Hypothesen entwickelt worden, doch besteht noch keine allgemeine Übereinstimmung in der Beurteilung.

Unter den verschiedenen Wegen, dieser Frage näherzukommen, wurde von uns die vergleichende Untersuchung an tierischen Objekten gewählt, welche wie der Mensch zur Klasse der Säuger gehören. Aus mehreren Gründen prüften wir verschiedene Arten von bestimmten Haustieren (Vorliegen einiger Kenntnisse über die chromosomalen Verhältnisse, Auftreten intersexer Individuen, gute Möglichkeiten der Materialbeschaffung). In Anlehnung an die humanmedizinischen Verfahren verwendeten wir zur Untersuchung der Ruhekernstrukturen die leicht zugängliche Backenschleimhaut. Unseres Wissens wurden die Kerne der Buccal-

epithelien innerhalb der Gruppe der Haustiere nur beim Rind auf karyologische Geschlechtsunterschiede untersucht (Osuchowska und Suminski 1957).

Unsere Studien sollten in erster Linie der Beantwortung der folgenden Fragen dienen.

1. Ist in den Ruhekernen der Buccalepithelien der Haustiere ein Chromatingebilde nachweisbar, das in morphologischer und histochemischer Hinsicht (Größe, Lage, Färbbarkeit) dem menschlichen Geschlechtschromatin vergleichbar ist?

2. Ist an den Buccalepithelzellen der Haustiere eine zellkernmorphologische Geschlechtserkennung auf Grund eines solchen Merkmals möglich?

Bei der Abhandlung der Untersuchungsergebnisse werden beide Fragen gemeinsam erörtert.

Material und Technik

Untersucht wurden ausschließlich Epithelzellkerne der Backenschleimhaut, um die Vergleichbarkeit der Befunde zu sichern. Das von uns ausgewertete Material stammt von Katze, Hund, Pferd, Esel, Schwein, Rind, Schaf und Ziege. Die Methode der Backenschleimhautuntersuchung bei Tieren bezeichnen wir als „Buccaltest".

Bei Katze, Hund, Ziege, Pferd und Esel erfolgte die Entnahme an dem lebenden Tier, bei Rind, Schwein und Schaf unmittelbar nach dem Schlachten während des Ausblutens. Nach Schleyers (1957) Untersuchungen an Epidermiszellen von menschlichen Leichen ist das Geschlechtschromatin bis zu etwa einer Woche post mortem nachweisbar. Zur Überprüfung der eigenen Technik und Gewinnung von Vergleichspräparaten wurden Vorversuche am Menschen durchgeführt. Zum Abstreichen benutzten wir einen Metallspatel oder ein kleines Messer mit stumpfer Schneide. Die Aufarbeitung des Materials zum Dauerpräparat erfolgte nach den Methoden von Klinger (1957) und Ludwig (1959), die in der verwendeten Farblösung modifiziert wurden.

Ausführung der Methode.

1. Schleimhautentnahme und Ausstreichen auf einem mit Eiweißglyzerin bestrichenem Objektträger;

2. *sofort* nach dem Ausstreichen (Präparat muß noch feucht sein) Fixierung in 95%igen Alkohol für 20 min bis 4 Std;

3. Präparate für 2 min in 70%igen Alkohol;

4. Hydrolyse in 5n HCl bei Zimmertemperatur für 20 min;

5. zweimaliger Wechsel in dest. Wasser, je 3—5 min;

6. Färbung, entweder a) mit gepufferter Thioninlösung (nach Klinger), oder b) mit Azur (II)-Farblösung (nach Ludwig), Färbedauer in beiden Fällen 30—60 min;

7. kurzes Abspülen in dest. Wasser;

8. Durchführen durch die aufsteigende Alkoholreihe 50 — 70 — 85 — 95 — 100%;

9. Einbetten in Euparal.

Herstellung der Farblösungen: Gepufferte Thioninlösung: 40 ml einer in 50%igem Alkohol gesättigten und dann filtrierten Thioninlösung mit 28 ml Michaelis-Puffer und 32 ml 0,1n HCl versetzen.

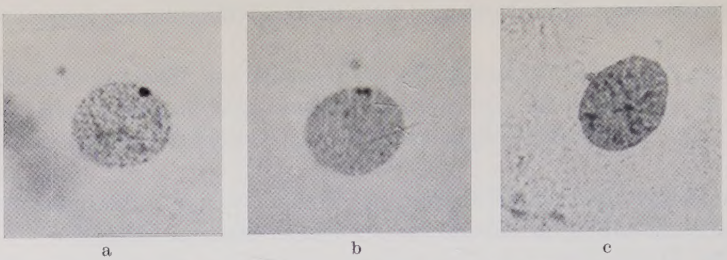
Azur (II)-Farblösung: 1 g Azur (II) in 200 ml dest. Wasser lösen und abfiltrieren. Von dieser Stammlösung 45 ml mit 45 ml dest. Wasser, 5 ml einer 10%igen Natriumbisulfitlösung und 5 ml 1n HCl versetzen und abfiltrieren.

Es wurden pro Tier 100 intakte Epithelzellkerne untersucht. Die Mutungsgrenzen für die Häufigkeiten der bei den männlichen Tieren erhaltenen Werte wurden nach Stevens (1942) für ein P von 0,01 berechnet.

Untersuchungsergebnisse

Vorversuche, Mensch. Die Auswertung der Präparate von 24 Normalpersonen (12 ♀♀ und 12 ♂♂) läßt einen deutlichen, kernmorphologischen Geschlechtsunterschied erkennen (Tabelle 1), wie er von früheren Untersuchern gefunden wurde. Ebenso konnten wir feststellen, daß das Geschlechtschromatin meist eine plankonvexe, seltener eine dreieckige oder flache

Form besitzt. Sehr selten besteht es aus zwei eng benachbart liegenden Partikeln, ein Doppelgebilde, das nach KLINGER (1957) „corpus bipartitus" genannt wird (Abb. 1).



a b c

Abb. 1a—c. Buccalepithelzellkerne, 1600 ×. *Mensch*, a u. b weiblich (b corpus bipartitum), c männlich

1. Katze. Die Untersuchungen an den freien Epithelzellkernen der Backenschleimhaut wurden an 11 weiblichen und 3 männlichen, unkastrierten Katzen durchgeführt. Die Kerne der weiblichen Tiere wiesen in rund 30% ein randständiges Chromatingebilde auf (Tabelle 1), das sich in Größe und Gestalt wie das vom Menschen her bekannte Geschlechtschromatin verhält (Abb. 2). An den Epithelzellkernen männlicher Tiere konnten praktisch keine mit einem derartigen Chromatinkörper vergleichbaren Gebilde nachgewiesen werden. Vereinzelt traten Kerne mit mehreren, kleineren Chromatinpartikeln im Kerninneren auf, wie sie auch an den Präparaten weiblicher Tiere beobachtet werden.

Tabelle 1. *Prozentuale Häufigkeiten des Geschlechtschromatins in den Buccalepithelzellkernen bei Mensch, Katze und Hund*

Art	Anzahl	Geschlecht	Häufigkeiten des Geschlechtschromatins in %
Mensch	12	♀	42,2 ± 1,42
Mensch	12	♂	0,0004 bis 0,62
Katze	11	♀	29,4 ± 1,30
Katze	3	♂	0,0017 bis 2,48
Hund	24	♀	45,8 ± 1,01
Hund	9	♂	0,038 bis 1,22

2. Hund. Auch bei den Hunden zeigte sich ein deutlicher Unterschied in den Ruhekernstrukturen der Epithelzellen weiblicher und männlicher Tiere. Die Ergebnisse, die wir an 24 weiblichen und 9 männlichen Individuen gewonnen haben, sind in Tabelle 1 wiedergegeben. Fast die Hälfte aller Kerne weist bei Hündinnen ein randständiges Chromatinkörperchen auf, während es bei Rüden nahezu nicht beobachtet wurde. Aus Abb. 3 ist ersichtlich, daß Gestalt und Größe des Geschlechtschromatins bei Hunden die gleiche Ausprägung wie beim Menschen zeigen.

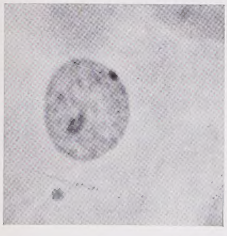


Abb. 2. *Katze*, weiblich

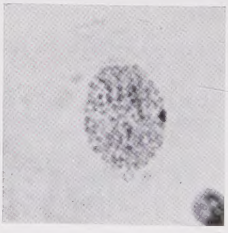


Abb. 3. *Hund*, weiblich

3. Pferd. Die Untersuchungen wurden an 13 Stuten und 10 Wallachen durchgeführt[1]. Bei beiden Geschlechtern besitzt der überwiegende Teil der Epithelzellkerne mehrere Chromatinkörperchen, so daß bei einer orientierenden Durchsicht ein geschlechtsspezifischer Unterschied in der Kernmorphologie nicht zutage

[1] KRUEGER und DIHLMANN (1957) stellten fest, daß sowohl Kastration als auch Hormongaben beim Kaninchen Zahl und Form der drumsticks nicht beeinflussen.

tritt. Bei einer genaueren Analyse der Epithelzellkerne beider Geschlechter lassen sich diese jedoch auf Grund unterschiedlicher Kernstrukturen in drei Typen einteilen. Auf dieser Grundlage wird ein Unterschied zwischen den Geschlechtern erkennbar.

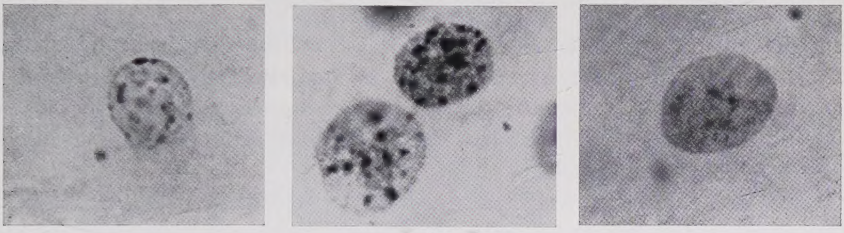
Folgende Kerntypen konnten gegeneinander abgegrenzt werden:

Typ I. Vorkommen eines einzigen, randständigen Chromatinkörpers, der die gleichen Eigenschaften (Färbbarkeit, Gestalt, Größe) wie das bei Mensch, Katze und Hund beobachtete Geschlechtschromatin aufweist.

Typ II. Mehrere Chromatinkörperchen, meistens 2—8, von unterschiedlicher Größe, an der Kernmembran oder im Kerninnern gelegen.

Typ III. Einheitliche Granulation ohne nennenswerte Chromatinstrukturen.

Ordnet man die Epithelzellkerne nach diesem Schema (Tabelle 2), so ergibt sich, daß in bezug auf den Typ I ein klarer Unterschied zwischen beiden Geschlechtern besteht: Kerne mit einem einzigen Chromatingebilde werden in Abstrichpräparaten von männlichen Tieren nie beobachtet, bei weiblichen Individuen



a b c

Abb. 4a—c. *Pferd*, a Typ I, b Typ II, c Typ III

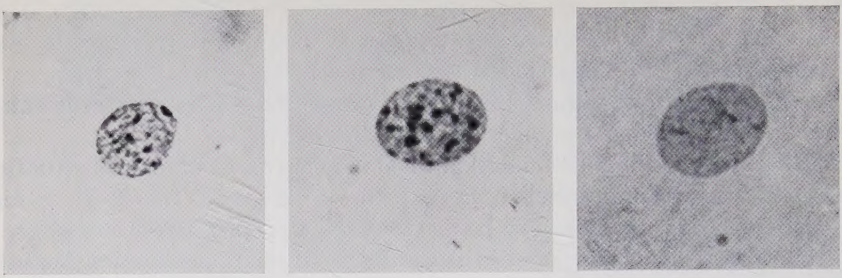
sind sie in einer Häufigkeit von rund 2% nachzuweisen. Die beiden anderen Kerntypen (II und III) werden dagegen in beiden Geschlechtern gefunden. Ihre Häufigkeiten differieren jedoch zwischen männlichem und weiblichem Geschlecht, und die Differenzen zeigen statistische Sicherung. Die drei verschiedenen Ruhekernstrukturtypen, die hier beobachtet werden, sind in Abb. 4 wiedergegeben.

Tabelle 2. *Prozentuale Häufigkeit der drei verschiedenen Typen von Buccalepithelzellkernen, aufgeteilt nach der Zahl der Chromatinkörper (mit einem: Typ I, mit mehreren: Typ II, ohne: Typ III) bei Pferd, Esel und Schwein*

Art	Anzahl	Geschlecht	Häufigkeiten der 3 Kerntypen in Prozent		
			I	II	III
Pferd	13	♀	$2{,}1 \pm 0{,}38$	$72{,}4 \pm 1{,}23$	$25{,}5 \pm 1{,}29$
Pferd	10	♂	0	$82{,}7 \pm 1{,}19$	$17{,}3 \pm 1{,}19$
Esel	2	♀	$2{,}5 \pm 1{,}10$	$12{,}0 \pm 2{,}24$	$85{,}5 \pm 2{,}48$
Esel	2	♂	0	$9{,}5 \pm 2{,}04$	$90{,}5 \pm 2{,}0$
Schwein	16	♀	$1{,}8 \pm 0{,}33$	$9{,}9 \pm 0{,}74$	$86{,}9 \pm 0{,}84$
Schwein	12	♂	0	$2{,}6 \pm 0{,}46$	$97{,}2 \pm 0{,}48$
Schwein	1	♀♂	4	21	75

4. Esel. Zur Prüfung wurden zwei weibliche und zwei männliche Tiere herangezogen. Auch hier läßt eine erste Betrachtung der Präparate zwischen beiden Geschlechtern keinen Unterschied an den Ruhekernstrukturen erkennen. Aber die genaue Analyse der auswertbaren Kerne zeigt wiederum, daß die gleichen drei

morphologischen Gruppen wie beim Pferd aufstellbar sind und auf der Grundlage dieses „3 Typen-Schemas" einen Unterschied zeigen (Tabelle 2). Bei weiblichen Tieren ist auch hier in rund 2% ein randständiges, kompaktes Chromatingebilde nachweisbar, das die gleiche Ausprägung wie das Geschlechtschromatin des Menschen und der schon beschriebenen Haustiere erkennen läßt. In den von

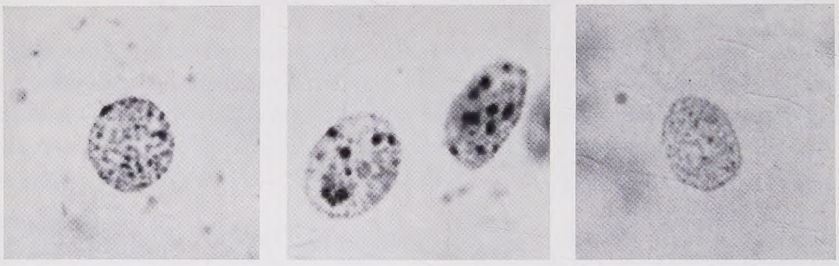


a b c

Abb. 5a—c. *Esel*, a Typ I, b Typ II, c Typ III

männlichen Tieren gewonnenen Abstrichpräparaten ist es dagegen nicht feststellbar. Auffallend gegenüber dem Pferd ist das umgekehrte Zahlenverhältnis von Kernen mit mehreren Chromatinkörpern zu denen ohne jegliche Chromozentrenausbildung. In der Abb. 5 sind die beim Esel beobachteten drei verschiedenen Ruhekerntypen wiedergegeben.

5. Schwein. Das Material stammte von 16 weiblichen und 12 männlichen Tieren sowie einem Zwitterschwein. Eine Überprüfung von 100 Kernen je Tier



a b c

Abb. 6a—c. *Schwein*, a Typ I, b Typ II, c Typ III

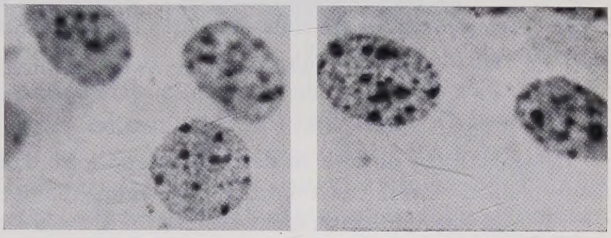
ergibt, daß eine Klassifizierung nach Kerntypen wie bei Pferd und Esel vorgenommen werden kann. Bei weiblichen Tieren ist wieder der Typ I in rund 2% vertreten, während er in den männlichen Präparaten nie gefunden wird. Die Mehrzahl der Kerne entfällt in beiden Geschlechtern auf die Gruppe von Typ III, während das Vorkommen von Kernen mit mehreren Chromatinkörpern (Typ II) relativ gering ist (Tabelle 2). Auch hier läßt sich wie beim Pferd hinsichtlich der beiden letztgenannten Kerntypen (II und III) statistisch ein Unterschied zwischen den Geschlechtern finden. In der Abb. 6 sind die bei Schweinen beobachteten Ruhekernstrukturen wiedergegeben.

An den Backenepithelzellkernen bei einem *Zwitterschwein* konnten die gleichen Feststellungen wie bei normalen weiblichen Schweinen getroffen werden[1]. Bei

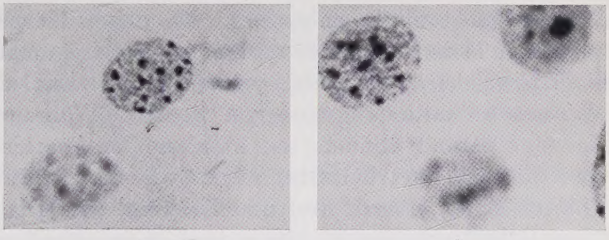
[1] Über die Keimdrüsenverhältnisse konnten keine Untersuchungen angestellt werden.

Auswertung von 100 Kernen entfallen 4 auf die Gruppe vom Typ I. Das hier beobachtete randständige Chromatingebilde zeigt ebenfalls die vom menschlichen Geschlechtschromatin her bekannte Ausprägung.

6. Rind. Die Untersuchungen wurden an 18 Kühen und 14 Bullen durchgeführt. In den Abstrichpräparaten beider Geschlechter traten im Vergleich mit den bisher besprochenen Haustieren starke Anhäufungen pyknotischer Kerne auf. Diese Erscheinung wird später diskutiert werden. Die auswertbaren Kerne weiblicher Tiere weisen eine Mehrzahl von Chromatinkörpern von unterschiedlicher Größe auf. Sie liegen sowohl randständig, wie auch ungleichmäßig verteilt im Kerninnern. Ruhekerne mit einem einzigen Chromozentrum von der gewohnten Größe und Gestalt des Geschlechtschromatins sind nicht nachweisbar. Bei der Betrachtung der männlichen Ruhekernstrukturen ergibt sich das gleiche Bild. Auch hier besitzen sämtliche zur Auswertung geeigneten Kerne mehrere dichte Chromatinkörperchen. Ein Unterschied in ihrem zahlenmäßigen Vorkommen zwischen beiden Geschlechtern ist nicht erkennbar, da von 3 bis zu 12 Chromatinkörpern alle Häufigkeiten sowohl in weiblichen als auch in männlichen Epithelzellkernen vertreten sind. Desgleichen kommen sehr selten in den Buccalabstrichpräparaten von Kühen wie von Bullen Ruhekerne ohne jegliche kompakte Chromatinstruktur vor (vgl. Abb. 7).



a b
Abb. 7a u. b. *Rind*, a weiblich, b männlich

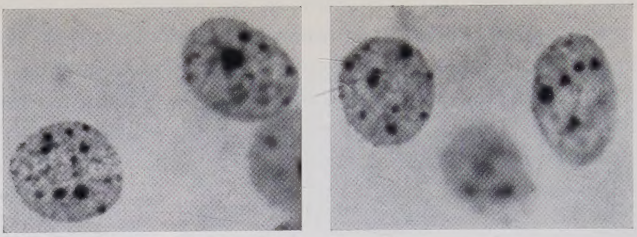


a b
Abb. 8a u. b. *Schaf*, a weiblich, b männlich

7. Schaf. Von 29 weiblichen und 31 männlichen Schafen zeigten die Ruhekerne in beiden Geschlechtern eine feinkörnige Grundstruktur, vorwiegend mit mehreren, größenmäßig oft unterschiedlichen, kompakten Chromatingebilden. Von ihnen liegt eins gelegentlich randständig. Weder in bezug auf diese randständigen Körper noch in bezug auf die Anzahl der weiteren Chromatinstrukturen läßt sich ein Unterschied zwischen den Geschlechtern erkennen. In ihrem Gesamtbild sind die Ruhekernstrukturen beim Schaf von denen des Rindes nicht zu unterscheiden, wie eine vergleichende Betrachtung der Abb. 7 und 8 zeigt.

8. Ziege. Das Untersuchungsmaterial stammte von zwei weiblichen und zwei männlichen Tieren. Es mußten jeweils größere Serien von Präparaten angefertigt werden, da nur sehr selten bewertbare Kerne zu finden sind. Die Analyse ergab, daß zwischen weiblichen und männlichen Buccalepithelzellkernen keine morphologischen Unterschiede an der Ruhekernstruktur auftreten. In beiden Geschlechtern werden neben Ruhekernen ohne prägnante Chromatingebilde solche

mit mehreren Chromatinkörperchen von variierender Größe und Zahl beobachtet (Abb. 9). Es ergibt sich das gleiche Bild, wie es für Rind und Schaf beschrieben wurde.



a b
Abb. 9 a u. b. *Ziege*, a weiblich, b männlich

Diskussion

Unsere Frage, ob sich in den Buccalepithelzellkernen der Haustiere ein dem menschlichen Geschlechtschromatin vergleichbares Gebilde befindet, können wir für fünf der acht untersuchten Arten positiv beantworten. Bei Katze, Hund, Pferd, Esel und Schwein ist ein Chromatinkörper nachweisbar, der morphologisch (Größe, Gestalt und Lage) und histochemisch (feulgenpositiv) dem menschlichen Geschlechtschromatin entspricht. Da dieser Körper nur in den Ruhekernen weiblicher Tiere beobachtet wird, nicht jedoch im männlichen Geschlecht, erweist er sich zugleich als *geschlechtsspezifisches Merkmal* und kann auch hier als Geschlechtschromatin angesprochen werden. Während die beiden ersten Arten, Katze und Hund, ähnliche und zwischen den Geschlechtern ebenso klar abgrenzbare Häufigkeitsverhältnisse zeigen wie der Mensch, ist für die drei letztgenannten Arten, Pferd, Esel und Schwein, eine Diagnose wegen der Seltenheit dieses Gebildes erschwert. Unter den hier aufgefundenen drei verschiedenen Kerntypen ist es nur in 2% aller Kerne vorhanden (Typ I). Die beiden anderen Kerntypen, nämlich mit mehreren Chromatinkörpern (Typ II) und ohne deutliche Chromatinstrukturen (Typ III), zeigen zwischen den Geschlechtern bei zwei dieser drei Arten zwar auch schwache, statistisch schon abzusichernde Unterschiede, doch soll auf diesen Befund kein besonderes Gewicht gelegt werden. Bei Rind, Schaf und Ziege wurden zwar Chromatinkörperchen gefunden, gelegentlich auch in randständiger Lage, aber ein Unterschied zwischen den Geschlechtern ließ sich nicht ermitteln. OSUCHOWSKA und SUMINSKI (1957) fanden im Inneren der Buccalepithelzellkerne am Rinde ebenfalls eine größere Zahl von Chromatingebilden bei beiden Geschlechtern. Ebenso wurde ein membranständiges Chromatinkörperchen bei beiden Geschlechtern festgestellt. Da die Autoren bezüglich dieses membranständigen Gebildes einen Häufigkeitsunterschied zwischen den Geschlechtern auszählen konnten, sprechen sie es als Geschlechtschromatin an.

Welche Erklärungsmöglichkeiten bieten sich für unsere Beobachtungen aus den bisher vorliegenden Untersuchungsergebnissen an? In älteren Arbeiten von BARR und BERTRAM (1949), GRAHAM und BARR (1952), CROUCH und BARR (1954), KLINGER (1957), REITALU (1957) u. a. wird das Geschlechtschromatinkörperchen der weiblichen Interphasekerne als Produkt der heteropyknotischen Abschnitte der beiden X-Chromosomen gedeutet, während man annahm, daß die heteropyknotischen Anteile der XY-Kombination in männlichen Kernen zu klein für

die Erfassung mit unseren optischen Hilfsmitteln seien. In jüngster Zeit konnten aber Ohno, Kaplan und Kinosita (1959) zeigen, daß es nur das eine X-Chromosom ist, das sich im weiblichen Ruhekern heteropyknotisch verhält und das Geschlechtschromatin bildet, während das zweite X isopyknotisch ist und sich nicht darstellt. Im männlichen Kern, der bei den Säugern ein X und ein Y enthält, ist das X-isopyknotisch, d. h. es bildet kein färbbares Körperchen. Damit wäre die Frage, warum es in männlichen Kernen nicht wenigstens zur Ausbildung eines Geschlechtschromatinkörperchens von der halben Größe des weiblichen kommt, beantwortet. Dagegen bleibt die Frage offen, weshalb das Geschlechtschromatin weiblicher Individuen nicht in allen Geweben auftritt und in den positiven Geweben so gut wie niemals in sämtlichen Zellen. Aus diesen und einigen anderen Gründen lehnen Hienz (1957), Hertl (1957), Segal und Nelson (1957) die Barrsche Hypothese ab. Hienz deutet das Geschlechtschromatinkörperchen nicht als einen Chromosomenabkömmling, sondern als ein Stoffwechselprodukt im Gefolge geschlechtsunterschiedlicher Stoffwechselvorgänge. Diese Annahme dürfte heute nur von wenigen Autoren geteilt werden. Eine andere Frage ist es, ob und wieweit Stoffwechselprozesse das Verhalten heterochromatischer Chromosomen oder Chromosomenabschnitte bei der Ruhekernbildung beeinflussen können. Beispiele sprechen für solche Möglichkeiten.

Bei Betrachtung unserer Befunde bei Pferd, Esel und Schwein könnte man annehmen, daß die auffällig niedrigen Prozentsätze erkennbarer geschlechtschromatin-positiver Buccalepithelzellen bei diesen Pflanzenfressern darauf beruhen, daß der höhere pH-Wert in der Mundhöhle auf die Chromozentrenbildung autosomalen Heterochromatins begünstigend wirkt, so daß der Nachweis des Geschlechtschromatins nicht mehr möglich ist.

Auf Einflüsse stoffwechselphysiologischer Faktoren weisen Beobachtungen von Hinrichsen (1957) hin, der bei Zellen mit stark vermehrter Eiweißsynthese im Pankreas des Kaninchens außer dem Geschlechtschromatin mehrere andere Chromatingebilde fand, welche die Geschlechtsdiagnose erschwerten. Ein weiteres Beispiel für die Beziehungen zwischen Zellhaushalt und dem Verhalten heterochromatischer Gebilde war bereits den älteren Cytologen bekannt: bei der fleischfressenden Pflanze *Drosera* vergrößern sich nach der Fütterung die Chromozentren. Vielleicht gehört hierher auch der Befund, daß bei Hühnern, bei denen das weibliche Geschlecht das heterogametische ist, sich das X-Chromosom der weiblichen Kerne trotzdem heteropyknotisch verhält und ein Geschlechtschromatinkörperchen bildet, während es im männlichen Geschlecht mit seinen zwei X-Chromosomen nicht gefunden wird (Kosin und Ishizaki 1959; Ohno, Kaplan und Kinosita 1960).

Bezüglich unserer Befunde in der Gruppe Rind, Schaf und Ziege, die in den Buccalepithelien keinen Geschlechtsunterschied erkennen lassen, möchten wir dagegen morphologische Faktoren in den Vordergrund der Deutung stellen. Es handelt sich hier um Wiederkäuer, bei denen die Buccalepithelien mit einem Stratum corneum versehen sind. Sachs und Danon (1956) haben an der menschlichen Epidermis nachgewiesen, daß die Zellschichten der Verhornungszone wegen des Vorkommens zahlreicher Chromatingebilde im Kernraum für eine Geschlechtsdiagnose ungeeignet sind. Da die Backenschleimhaut der Wiederkäuer den gleichen Aufbau wie die menschliche Epidermis besitzt, nehmen wir

an, daß bei den Buccalabstrichen nur Kerne dieser verhornenden Zellschicht erhalten werden, deren multiple Chromatinkörper einen Geschlechtschromatinnachweis verhindern. Als Ursache dieser Körper vermuten wir degenerative Zellveränderungen.

Betrachtet man unsere an Haustieren gewonnenen Ergebnisse in bezug auf deren systematische Stellung, so zeigt sich, daß bei Katze und Hund, die zur Ordnung der Carnivoren gehören, eine Übereinstimmung im Hinblick auf das Vorhandensein eines geschlechtsspezifischen Chromatinkörpers besteht. Bei den übrigen Haustieren, die sämtlich der Ordnung der Ungulaten zugeordnet werden, läßt sich eine Übereinstimmung bei Pferd und Esel erkennen, die der Unterordnung der Perissodactyla angehören. Schwein, Rind, Schaf und Ziege werden der Unterordnung der Artiodactyla zugeteilt. Diese gliedert sich in die Sektionen der Ruminantia und Nonruminantia. Rind, Schaf und Ziege, die in die erstgenannte Sektion eingereiht werden, zeigen ein einheitliches Verhalten. An ihnen ist eine kernmorphologische Geschlechtsdiagnose nicht durchführbar. Das Schwein, das der Sektion der Nonruminantia zugeordnet wird, weicht in seinem kernmorphologischen Verhalten von den Angehörigen der anderen Sektion ab. Es zeigt aber unerwartet Übereinstimmungen mit Pferd und Esel, die zu einer anderen Unterordnung gehören.

Abschließend läßt sich zur Frage der unterschiedlichen Ergebnisse bezüglich einer strukturellen Geschlechtsdifferenz in den Buccalepithelien der von uns untersuchten Säugern sagen, daß sowohl gewebsspezifische physiologische Bedingungen wie morphologische Faktoren (verhornendes Epithel bei den Wiederkäuern) zur Erklärung herangezogen werden können. Durch sie mögen vorhandene Unterschiede verschleiert oder maskiert werden. Eine solche Maskierung durch geschlechtsunspezifische Chromatinkörper vermuten wie bei jenen drei Arten, an denen sich ein Geschlechtsunterschied nicht ermitteln ließ. Keinesfalls nehmen wir an, daß ein solcher Unterschied hier fehlt. Soweit andere Gewebe bei diesen Arten bereits untersucht wurden, trat eine Geschlechtsspezifität zutage (Rind, Schaf) (vgl. Schmidtke 1957).

Für eine weitere Klärung wäre die Prüfung der chromosomalen Verhältnisse unter Anwendung jener verbesserten Methoden angezeigt, wie sie jetzt beim Menschen angewendet werden. Über die Verhaltensweisen des Heterochromatins sind aber hieraus zur Zeit keine Aufschlüsse zu erwarten. Dafür müßten vor allem Insektenstudien herangezogen werden (Wolf 1957), wenn es um die Frage der Beeinflußbarkeit des Allozykliegrades der Chromosomen geht.

Zusammenfassung

Die Epithelzellkerne der Backenschleimhaut von Katze, Hund, Pferd, Esel, Schwein, Rind, Schaf und Ziege wurden auf einen kernmorphologischen Geschlechtsdimorphismus geprüft.

Ein geschlechtsspezifisches Chromatingebilde konnte bei weiblichen Katzen mit einer Häufigkeit von 29,4% ± 1,30% und bei weiblichen Hunden von 45,8% ± 1,01% nachgewiesen werden. Der Mutungsbereich bei männlichen Katzen erstreckt sich von 0,0017% bis 2,48% und bei männlichen Hunden von 0,038% bis 1,22%.

Bei Pferd, Esel und Schwein treten in beiden Geschlechtern multiple, größere Chromatinkörper in den Epithelzellkernen auf. Jedoch finden sich bei den weiblichen Vertretern, wenn auch in geringer Häufigkeit, Kerne mit einem dem menschlichen Geschlechtschromatin vergleichbaren Gebilde und zwar bei Schweinen in 1,8% ± 0,33%, bei Pferden in 2,1% ± 0,38% und bei Eseln in 2,5% ± 1,10%, während sie bei männlichen Individuen völlig fehlen.

Bei Rind, Schaf und Ziege treten in beiden Geschlechtern mehrere, kompakte Chromatinkörper auf. Ein Geschlechtsunterschied mit Hilfe des Buccaltests ist bei diesen Arten nicht zu ermitteln.

Natur und Beeinflußbarkeit der geschlechtsspezifischen Ruhekernstruktur werden diskutiert.

Literatur

Barr, M. L., and E. Bertram: A morphological distinction between neurones of the male and female, and the behaviour of the nuclear satellit during accelerated nucleoprotein synthesis. Nature (Lond.) **163**, 676—677 (1949).

Crouch, Y. F., and M. L. Barr: The behaviour of the sex chromatin during axon reaction. J. Neuropath. exp. Neurol. **13**, 353—358 (1954).

Davidson, W. M., and D. R. Smith: A morphological difference in the polymorphnuclear neutrophil leucocytes. Brit. med. J. **1954II**, 6—7.

Graham, M. A., and M. L. Barr: A sex difference in the morphology of metabolic nuclei in somatic cells of the cat. Anat. Rec. **112**, 709—723 (1952).

Hertl, M.: Zum Nucleolus-Problem. Z. Zellforsch. **46**, 18—51 (1957).

Hienz, H. A.: Zellkernmorphologische Geschlechtserkennung bei Säugetier und Mensch. Dtsch. med. Wschr. **82**, 1986—1991 (1957).

— Die zellkernmorphologische Geschlechtserkennung in Theorie und Praxis. Heidelberg: Dr. A. Hüthig-Verlag 1957.

Hinrichsen, K.: Cytologische Geschlechtsbestimmung an somatischen Zellen von Kaninchen. Verh. Anat. Ges., 54. Verslg 1957, S. 287—293.

Klinger, H. P.: The chromatin in fetal and maternal portions of the human placenta. Acta anat. (Basel) **30**, 371—397 (1957).

— The fine structure of the sex chromatin body. Exp. Cell. Res. **14**, 207—211 (1957).

—, and K. S. Ludwig: A universal stain for the sex chromatin body. Stain Technol. **32**, 235—244 (1957).

Kosin, I. L., and H. Ishizaki: Incidence of sex chromatin in *Gallus domesticus*. Science **130**, 43—44 (1959).

Krueger, W., u. W. Dihlmann: Über das Verhalten geschlechtsspezifischer Kernanhänge nach Kastration. Klin. Wschr. **35**, 1047—1048 (1957).

Ludwig, K. S.: Eine vereinfachte Färbungsmethode zur Darstellung des Geschlechtschromatins. Med. Wschr. **101**, 342—343 (1959).

Lüers, Th.: Ein morphologisches Geschlechtsmerkmal in Leukocyten. Berl. Med. **7**, 120—121 (1956).

—, u. H. Lüers: Vergleichende Untersuchungen zur Geschlechtsdiagnose aus den neutrophilen Leukocyten bei einigen Laboratoriumsnagern. Zool. Anz. **160**, 248—260 (1958).

—, u. E. Struck: Untersuchungen zur geschlechtsspezifischen Struktur der Neutrophilenkerne bei einigen Haustieren (Ziege, Schaf, Schwein, unter Berücksichtigung der Zwitter). Zool. Anz. **164**, 89—103 (1960).

Ohno, S., W. D. Kaplan and R. Kinosita: Formation of the sex chromatin by a single X-chromosome in liver cells of *Rattus norwegicus*. Exp. Cell Res. **18**, 415—418 (1959).

— — — On the sex chromatin of *Gallus domesticus*. Exp. Cell Res. **19**, 180—183 (1960).

Osuchowska, Z., and E. Suminski: Sex difference in the structure of somatic cells nuclei in cattle. Folia morph. (Warszawa) **8**, 195—199 (1957).

Reitalu, J.: Observations on the so-called sex chromatin in man. Acta Genet. med. (Roma) **6**, 393—402 (1957).

Sachs, L., and M. Danon: The diagnosis of the sex chromatin in human tissues. Genetica **28**, 201—216 (1956).

Schleyer, F.: Beziehungen der Nachweisbarkeit des Geschlechtschromatins in den Oberhautzellen und dem Leichenalter. Schweiz. Z. allg. Path. **20**, 280—286 (1957).

Schmidtke, C.: Über karyologische Geschlechtsdifferenzierung bei Tieren. Tierz. Züchtungsbiol. **70**, 203—232 (1957).

Segal, S. J., and W. O. Nelson: Developmental aspects of human hermaphroditism: the significance of sex chromatin patterns. J. clin. Endocr. **17**, 676—692 (1957).

Stevens, W. L.: Accuracy of mutation rates. J. Genet. **43**, 301—307 (1942).

Wolf, B. E.: Temperaturabhängige Allozyklie des polytänen X-Chromosoms in den Kernen der Somazellen von *Phryne cincta*. Chromosoma (Berl.) **8**, 396—435 (1957).

Dr. Eva Struck,
Institut für Genetik der Freien Universität Berlin,
Berlin-Dahlem, Rudeloffweg 9

Lebenslauf

Am 8. August 1922 wurde ich als Tochter des Landgerichtsdirektors Wilhelm Marg und seiner Ehefrau Margarete geb. Henke in Stargard/Pommern geboren. Von Ostern 1928—1930 besuchte ich die Hanseschule in Stralsund. Anschließend beendete ich die Grundschule in Stolp/Pommern, wo ich auch die Staatliche Lessingschule besuchte und am 18. März 1941 meine Reifeprüfung ablegte. Nach Ableistung eines halben Jahres RAD und eines halben Jahres KHD begann ich mein Biologiestudium an der Technischen Hochschule Danzig. Infolge Krankheit mußte ich das Studium von 1944—1946 unterbrechen. 1946 nahm ich das Studium an der Universität Greifswald wieder auf und legte am 20. Februar 1952 meine Diplomprüfung ab. Am 1. März des gleichen Jahres heiratete ich den Diplomchemiker Hansjürgen Struck, von dem ich am 27. Mai 1957 schuldlos geschieden wurde. Zum Sommersemester 1957 bewarb ich mich am Institut für Genetik der Freien Universität Berlin bei Herrn Prof. Dr. H. Lüers um eine Doktorarbeit, die ich nach dreimonatiger Probezeit erhielt. Seit dem 1. Oktober 1957 bin ich auf Vorschlag des Institutsdirektors von Seiner Magnifizenz, dem Herrn Rektor, mit der Verwaltung der Stelle eines wissenschaftlichen Assistenten am Institut für Genetik der Freien Universität Berlin beauftragt.

Meine Lehrer an der Technischen Hochschule Danzig, der Universität Greifswald und der Freien Universität Berlin waren vor allem die Damen und Herren Professoren Dr. Lüers (Genetik); Dr. A. Koch, Dr. Seiffert (Zoologie); Dr. Voderberg, Dr. Bauch (Botanik); Dr. Klemm, Dr. Jander, Dr. Bayer (Chemie); Dr. Kossel (Physik).